



TITLE:

研究室の安全性について

AUTHOR(S):

佐藤, 守; 細谷, 亮

CITATION:

佐藤, 守 ...[et al]. 研究室の安全性について. 日本外科宝函 1983, 52(5): 648-654

ISSUE DATE:

1983-09-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208886>

RIGHT:

研究 室 の 安 全 性 に つ い て

神戸市立中央市民病院外科

佐 藤 守

京都大学医学部第1外科

細 谷 亮

〔原稿受付：昭和58年7月5日〕

Biohazard Control in the Research Laboratory

MAMORU SATO and RYO HOSOTANI

The biohazard analysis of laboratory-acquired infections suggests that contaminated aerosols may have contributed to occupational illness among laboratory workers.

Biological safety cabinets are the principal equipment used to provide physical containment. They are used as the primary barriers to prevent the escape of aerosols into laboratory environment. As the second barriers, properly designed facilities are important.

But, the physical controls alone cannot create a safe laboratory. Good laboratory techniques are essential to achieve and maintain a research environment.

Therefore, biosafety depends upon equipment, engineering features and good laboratory practices.

I. は じ め に

従来、日本の研究室では、放射性物質については厳格な管理が求められてきたが、有害物質や発癌性物質については比較的寛大であった。しかし、近年の発癌およびDNA組み替え等に関する研究は、研究者にとって危険なものであることが認識され、研究室の安全性について多くの規制が求められている。

著者の1人は1981年夏、米国で Biological Safety Officer としての訓練をうけ、その後各地の研究室を

見学する機会を得たので、ここにその一端を報告し、医学研究室における安全性について考えてみたい。

II. 社 会 的 背 景

研究室の安全性という問題は古くて新しい課題である。細菌学の勃興と共に、すでに1885年に研究室での原因不明のチフス感染が報告され、1893年には注射時に破傷風に感染した例が、1894年にはピペット操作時にコレラに罹患した例が報告されている。その後も病原微生物を取扱う学者の中には、研究中に実験室内感

Key words: Biohazard, Aerosol, Biological safety cabinet, Containment facility, Chemical carcinogen.

索引語：バイオハザード、エアロゾル、安全キャビネット、安全実験室、癌原性物質

Present Address: Kobe Central Municipal Hospital 4-6 Port-island, Chuo-ku, Kobe-city, Japan.

染をきたして死亡した人が少なくなかったため、病原体の研究に際しては、適切な実験操作と種々の安全装置が工夫されてきた。

しかし研究室における感染を調査研究した近年の報告^{15,16)}では、注射時の自己接種とか器具破損時の傷害による感染といった、明らかな事故によると考えられるものは20%にすぎず、大部分の実験室内感染は“原因不明”であり、従ってこれまでの安全対策では充分に感染を予防しえないことが明らかとなった。それと共に、汚染 aerosol が研究室の安全にとって最大の脅威であるという認識に至ったのである¹⁶⁾。

一方、1970年代に入り、遺伝子操作の問題が提起されると、DNA 組み替えによって強い毒性と伝染性を有する病原体が作り出され、研究者は勿論のこと実験動物や研究室の排ガスを介して、一般社会に伝染するかもしれないという危惧が表明された。そこで米国では NIH (National Institute of Health) が1975年⁶⁾以来3回程にわたり、DNA 組み替え実験における指針を設定し、安全な研究をめざすようになった。

これらの微生物学上の安全に関する経験や知識は発癌性物質や有毒性物質を取扱う場合にも必要と考えられ、米国ではすでに1973年に癌の安全な研究のためのシンポジウムがもたれた。発癌物質の場合、接触してから発病までに10年から20年、長い場合には30年を要するといわれているが、発病すればほぼ致命的なことから、1977年 OSHA (Occupational Safety and Health Administration) から発癌物質の取扱いに関するガイドラインが出され、1980年にはその改訂案が提示されている。同様の指針は DHEW (Department of Health, Education and Welfare) から出され、癌研究の際の安全性は法のもとに要求されるに至っている。

なお Biological Safety Officer というのは、安全な研究を行うために、各大学、研究所に設置を義務付けられた、安全問題に関する専門家である。

III. Aerosol の発生とその捕集

aerosol というのは空中に分散した径0.01から 50 μm の小粒子で、dust, fume, smoke, mist といわれるものの総称である。Biohazard 対策としては径0.1から 5 μm のものが対象とされている。

表1に示したように、日常的に行われている実験操作のほとんどが aerosol を発生させ、特に超音波や破砕器で細胞破砕を行うと大量の aerosol が発生する。

しかし図1に示したように、同じピペット操作におい

表1 AEROSOL を生ずる実験操作

凍結乾燥 ^{11,14)}
加熱、燃焼、除灰
粉末処理
粉碎、研磨、すりつぶし
混合、攪拌 ¹⁾
蓋や栓の除去 ¹⁾
アンプルカット
計量
遠心分離 ¹³⁾
超音波処理
ピペット操作 ^{1,12)}
注射器と針を用いての操作
動物の取扱い
移送操作
事故、遺漏、容器破損
清掃、特に乾式掃除

ても、最後の1滴をふき出すか、壁にそわせるかによって aerosol の発生を半分以下に抑えることも可能であり¹²⁾、研究者には適切なピペット操作が要求される。注射器の取扱い、超音波操作等についても適切な操作が必要であり、生物材料や有害物を取扱う研究者は、まず第一に適切な実験操作を習得し、汚染 aerosol をできるだけ発生させないことが要求される。

しかし実験室で aerosol の発生を完全に防止することは不可能である。従って、発生した汚染 aerosol は可及的速やかに捕集しなければならない。

aerosol は粒子の運動性と重力による沈降がバランスして浮遊しているが、これが他の物質の表面に吸着捕集されるには主として3つの様式があり、0.3 μm

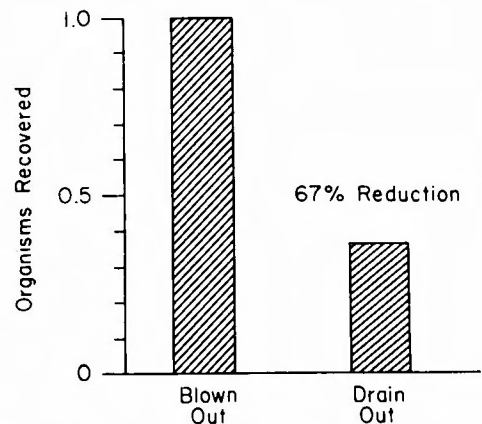


図1 ピペット操作のちがいによる aerosol の発生¹²⁾

以下のものは粒子のブラウン運動によって付着し、それより大きいものは inertial impaction とか interception という様式でフィルターに衝突して捕集される。

HEPA (high efficiency particulate air) フィルターというのはこうした方法で高率に空中粒子を捕集しようとするもので、1940年代から50年代にかけて米軍の研究機関で開発され、最も効率の悪いといわれる $0.3\ \mu\text{m}$ の粒子でも 99.97% 捕集する能力があり、 $0.2\ \mu\text{m}$ 以下や $0.5\ \mu\text{m}$ 以上のものでは 99.99% 以上捕集するといわれている⁵⁾。

IV. Biological Safety Cabinet^{2,4,7,8)}

発癌はもとより、病原体や遺伝子を取扱う研究分野が盛んになったのは、HEPA フィルターを用いた biological safety cabinet が考案されたからであり、安全な研究のために不可欠の装置である。

これまでわが国では、生物学的実験のためにクリーンベンチが主として使用されてきたが、これは作業域に清浄空気を供給するだけで、作業台で発生した汚染 aerosol から研究者を守るものではなかった。

biological safety cabinet は表 2、図 2 に示したように、汚染 aerosol を作業圧域に閉じ込める目的で作られており、class I、II、III に分類され、頻用される class II のものには type A と type B がある。

class I のものには前面パネルの有無、手袋の有無によって3つの型式があり、危険度3の病原菌まで取扱うことができる。しかし実験が汚染空気中で行われることになるので、現実にはあまり使用されていない。

class II のものは laminar airflow biological safety cabinet として知られ、cabinet 内の気流も HEPA フィルターによって清浄化されるために利用範囲も広い。研究者はエア・カーテンによって保護され、有害な aerosol を含む排気は HEPA フィルターによって浄化される。type A と type B の違いは図 2 にも示されているが、type B では原則として排出された空気は室内へ再循環されず、また作業台を再循環する空気の割合も type A では 70% もあるのに反し、type B では 30% 以下である。type A では背部のプレナムが陽圧汚染圧域となるため、ここに漏れがあれば、汚染 aerosol は室内に排出されるようになる。

従って、type B の cabinet 内では発癌性物質や low-level の放射性物質、揮発性溶剤等の有害化学物

質を取扱うことが可能である。

class III のものは最高危険度 (危険度 4) の生物材料を取扱うことのできる完全気密型の装置で、次のべる P4 の設備で使用される。操作は装備されたゴム手袋を通して行ない、内部は陰圧となっており、排気は二重に HEPA フィルターで処理される。

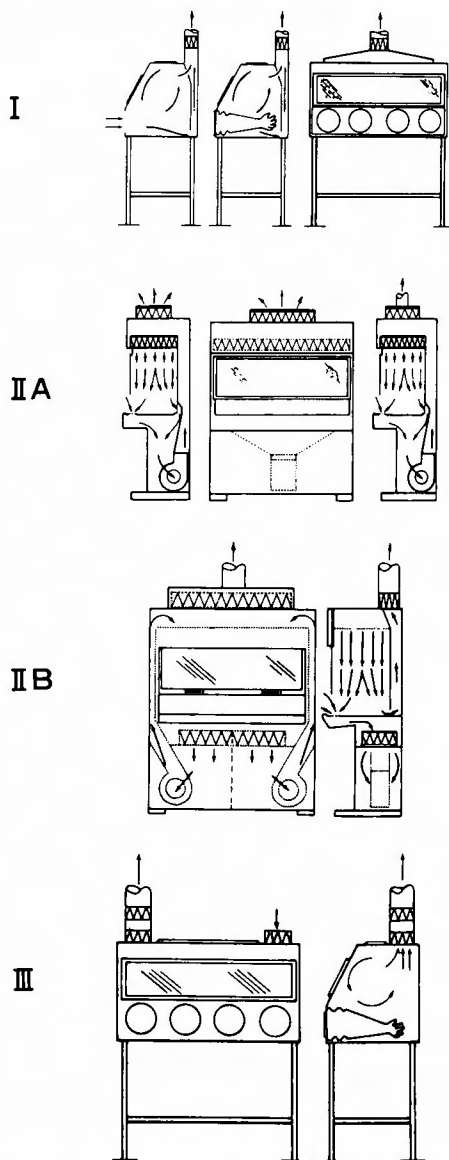


図 2 各種 biological safety cabinet (BSC) の正面、側面模式図⁹⁾。矢印は空気の流れを示す。

I: class I の BSC, II A: class II, type A の BSC, II B: class II, type B の BSC, III: class III の BSC

表2 Biological Safety Cabinet の性能

キャビネット	面速度 (ft/min)	気流速度	負圧 (インチ水柱)	排気フィルター能
Class I 前方開放型	75	NA	NA	0.3 μm の粒子を 99.97%除去
手袋なし前面パネル型	150	NA	NA	//
手袋付前面パネル型	NA	NA	4p>0.5	//
Class II				
Type A 高さ10インチの固定開放口	75	a	NA	//
Type B 高さ8-20インチの 移動性開放口	100	a	NA	//
Class III 完全気密型	NA	NA	4p>0.5	b

a) 国立公衆衛生協会 (NSF) 基準49に従う

b) 2重の HEPA フィルターで、各々が 0.3 μm の粒子を99.97%除去する性能をもつこと、第2フィルターの代りに焼却炉を用いることもある。

V. 設備・施設^{3,8,9)}

医学研究施設は生体にとって有害なものを取扱う程度により3つの範ちゅうに分類されている。

- 1) basic microbiology facility
- 2) containment facility
- 3) maximum containment facility

basic microbiology facility には何らかの形の biological safety cabinet が備えつけてあり、床や天井や壁が洗剤や消毒剤に耐性で、実験台は酸、アルカリ、有機溶媒に対して強く、室内の清掃が容易なことが必要である。手洗いはドアの近くにあることが望まれる。

containment facility というのは、実験室が事務室や教室等から完全に分離されており、biological safety cabinet をはじめ種々の安全装置があり、特別の換気システムによって実験室全体が負圧となり、室外から室内に向う気流のあることが必須である (図3右)。オートクレーブの設置も義務づけられている。P3レベルの研究施設ともいう。

maximum containment facility は高度安全実験室

といわれるもので、危険度4の病原体や非常に危険なビールズを取扱い、万一事故があっても、それらが研究室の外に漏洩しないような防止設備を備えている。すなわち部屋全体が密閉され、シャワー、air lock、更衣室があり、図4のように給気管と排気管が交差連絡しない、その部屋独自の換気システムを持ち、二重ドアのオートクレーブ、汚染液浄化装置、生物廃棄処理装置が設備されている。class IIIの safety cabinet を備え、研究者は防護服などの着用を義務づけられている。NIH のガイドラインにいう P4 レベルの研究施設である。

表3は各種実験材料とそれに対応する研究施設の関係を示している。

VI. 発癌性物質の取扱い

発癌物質は containment facility で class II, type B か class IIIの biological safety cabinet を利用して取扱うことが望ましい。従って、それに必要な条件を列挙してみると、

- 1) 部屋は隣接圧域より負圧で、気流は再循環しな

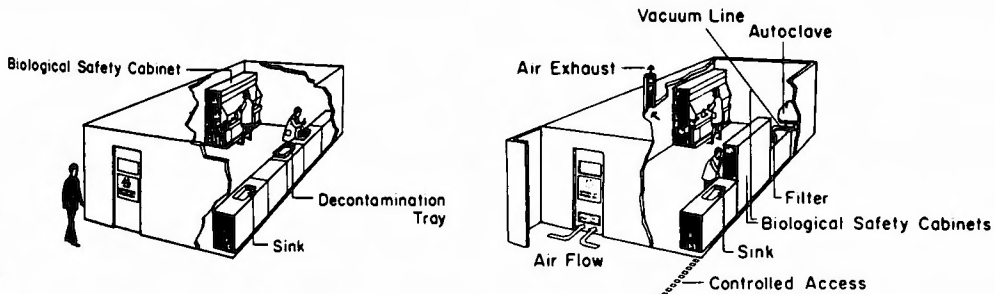
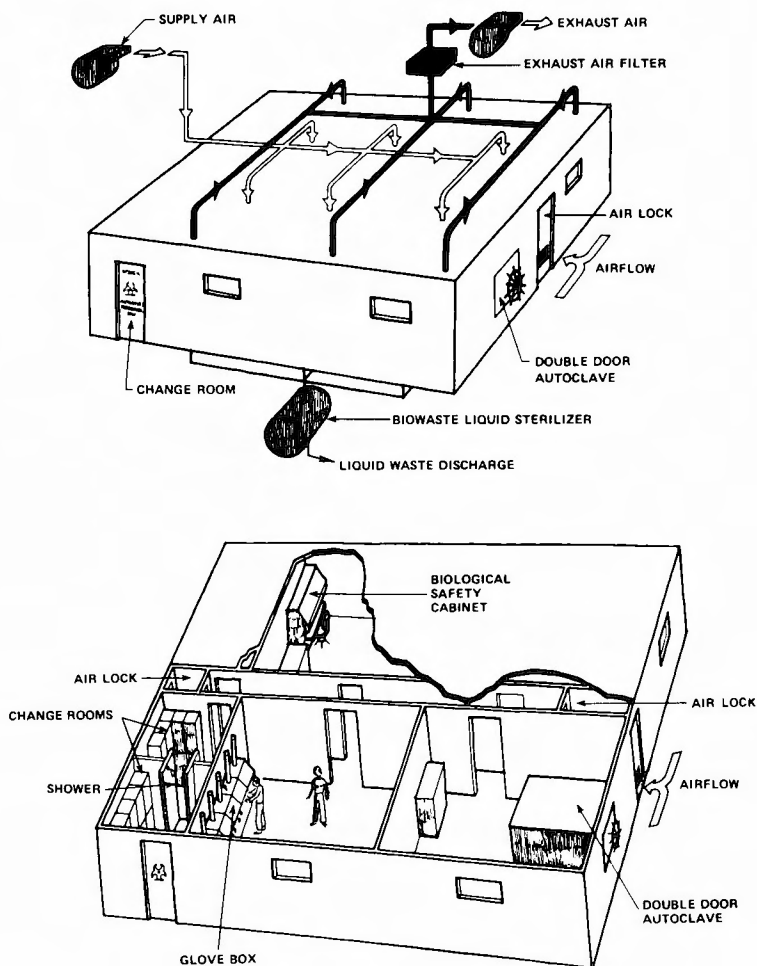


図3 basic microbiology facility (左) と containment facility (右) の比較図

図4 maximum containment facility⁶⁾

いように設計されており、部屋の空気は時間あたり最低10回は換気されること。

2) 入室する研究者は許可制であり、実験中は図5のような“Biohazard”の標識を掲げること。

3) 発癌物質は明確な標識のついた缶に入れて、その物質に応じた適当な条件下に保管すること。

4) 発癌物質は safety cabinet 内で取扱い、その際、研究者は手袋、長袖のガウンを着用し、cabinet の窓枠はできるだけ下げ、また作業域には吸収性の紙を敷き、発癌剤の散布にそなえること。

5) ピペット操作をはじめとする実験操作は十分に安全性を配慮したものであること(安全用装置・器具の使用)。

6) 操作の後には必ず手を洗うこと。

7) 汚染物質の廃棄処理は規則に従って行うこと。

8) 実験についての記録を残し、必要に応じて健康診断を受けること。

9) 緊急時、事故発生時のプランを作成しておくこと。

10) 動物を取扱う必要のある時には、その管理について習熟しておくこと。

近年、外科の研究施設からも、発癌性物質を用いた多くの研究が報告されるようになったが、実際の研究に際してはさらに注意深い配慮が必要である。例えば手袋は2枚着用し、外側のものは操作ごとにかえていくといったことは、発癌研究に慣れた研究室ではよくみかけられることである。

また危険物を取扱う施設内では、禁煙で、実験室で

表3 実験材料とそれに対応する研究施設

病原体	
危険度 1	…Basic Microbiology Facility
危険度 2	…Basic Microbiology Facility
危険度 3	…Containment Facility
危険度 4	…Maximum Containment Facility
癌ウイルス	
Low Risk Viruses	…Basic Microbiology Facility
Moderate Risk Viruses	…Containment Facility
High Risk Viruses	…Maximum Containment Facility
発癌物質	…Containment Facility
P レベル	
P 1 レベル	…Basic Microbiology Facility
P 2 レベル	…Basic Microbiology Facility
P 3 レベル	…Containment Facility
P 4 レベル	…Maximum Containment Facility

食事をすることもなく、手洗いも励行されており、よき習慣が確立されていた。

VII. 結 語

発癌性物質を取扱ったり、遺伝子操作を伴う実験は危険なものであるが、十分な安全設備、安全装置と正しい実験操作を行えば、その危険は克服できるものである。その場合、適切な biological safety cabinet は不可欠のものである。安全を考慮した環境のもとで、意欲的な研究を行なうことが望まれる。

文 献

- 1) Anderson RE, Stein L, et al: Potential infectious hazards of common bacteriological techniques. *J Bact* **64**: 473, 1952.
- 2) Baldwin CL and Errico PH: Biological safety cabinets for contamination control. *J Chem Ed* **52**: A545, 1975.
- 3) Brown SS: Laboratory design and chemical hazards. *Ann Clin Biochem* **8**: 125, 1971.
- 4) Darlow HM: The design of laboratory safety cabinets. *Chem Ind* 1967, p. 1914.
- 5) Langmuir I: Filtration of aerosols and development of filter materials. OSRD Report No 865. Office of Technical Services, Washington DC 1943.
- 6) National Institute of Health: Proposed guidelines for research involving recombinant DNA



ADMITTANCE TO AUTHORIZED PERSONNEL ONLY

Hazard identity: _____

Responsible Investigator: _____

In case of emergency call:

Daytime phone _____ Home phone _____

Authorization for entrance must be obtained from the Responsible Investigator named above.

図5 Biohazard の標識⁸⁾

molecules. 1975.

- 7) National Sanitation Foundation: Final Draft Proposed Revisions to NSF Standard No 49 for Class 11 (Laminar Flow) Biohazard Cabinetry. Ann Arbor, Michigan, 1980.
- 8) Office of Research Safety, National Cancer Institute and the Specific Committee of Safety and Health Experts: Laboratory Safety Monograph. A Supplement to the NIH Guidelines for Recombinant DNA Research. Bethesda, Maryland 1978.
- 9) Phillips GB and Rundle RS: Laboratory design for microbiological safety. *Appl Microbiol* **15**: 378, 1967.
- 10) Pike RM: Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3921 cases. *Health Lab Science* **13**: 105, 1976.
- 11) Reitman M, Moss MO, et al: Potential infectious hazards of laboratory techniques. I. Lyophilization *J Bact* **68**: 541, 1954.
- 12) Reitman M and Phillips GB: Biological hazards of common laboratory procedures. I. The Pipette. *Am J Med Tech* **21**: 338, 1955.
- 13) Reitman M and Phillips GB: Biological hazards of common laboratory procedures. III. The centrifuge. *Am J Med Tech* **22**: 14, 1956.
- 14) Stein CD and Rogers H: Recovery of viable microorganisms from vapors removed from frozen suspensions of biological material during lyophilization. *Am J Vet Res* **11**: 339, 1950.

- 15) Sulkin SE and Pike RM: Survey of laboratory-acquired infections. *Am J Public Health* **41**: 769, 1951.
- 16) Wedum AG: Laboratory safety in research with infectious aerosols. *Public Health Reports* **79**: 619, 1964.
- 17) Whitley KT and Lundgren DA: Mechanisms of air cleaning. *ASAE Transactions* **8**: 342, 1965.